

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002093

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C12N15/53, C07C55/08, C12P7/04, 7/40, 7/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C12N15/53, C07C55/08, C12P7/04, 7/40, 7/44

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
CAPLUS/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus (STN), PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
$\frac{X}{A}$	S.X. XIE et al., NAD ⁺ -dependent (S)-specific secondary alcohol dehydrogenase involved in stereoinversion of 3-pentyn-2-ol catalyzed by Nocardia fusca AKU 2123., Biosci.Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729	$\frac{2}{1,3-6}$
$\frac{X}{A}$	H. GROGER et al., Preparative asymmetric reduction of ketones in a biphasic medium with an (S)-alcohol dehydrogenase under in situ-cofactor-recycling with a formate dehydrogenase., Tetrahedron, 12 January, 2004 (12.01.04), Vol.60, No.3, pages 633 to 640	$\frac{2-5}{1,6}$

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 May, 2005 (09.05.05)Date of mailing of the international search report
24 May, 2005 (24.05.05)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

10/588286

IAP11 Rec'd PCT/PTO 04 AUG 2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002093

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> A	W, HUMMEL et al., Towards a large-scale asymmetric reduction process with isolated enzymes: expression of an (S)-alcohol dehydrogenase in E.coli. and studies on the synthetic potential of this biocatalyst., Adv.Synth.Catal. (2003), Vol.345, No.1+2, pages 153 to 159: (Erratum in Adv.Synth.Catal. (2003), Vol.345, No.3, A35)	<u>2-5</u> 1,6
P,A	JP 2005-6552 A (Mitsubishi Chemical Corp.), 13 January, 2005 (13.01.05), (Family: none)	1-6
P,A	JP 2005-2 A (Daicel Chemical Industries, Ltd.), 06 January, 2005 (06.01.05), & EP 1469079 A1	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/002093

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The invention of claims 1-6 and 11-15 relates to (S)-2-pentanol or (S)-2-hexanol produced by the use of a microbe (or transformed cells) or product of purification of a carbonyl reductase fraction obtained from the microbe. The invention of claim 7 relates to a process for producing (R) or (S)-3-methylcarboxylic acid by decarbonation of (R) or (S)-1-methylalkylmalonic acid. The invention of claim 8 relates to a process for producing (R) or (S)-1-methylalkylmalonic acid from an optically active alcohol. The invention of claims 9 and 10 relates to (R) or (S)-1-methylalkylmalonic acid.

Therefore, it appears that there is no special technical feature common to (continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos. 1, 2 and 6 and part of claims Nos. 3-5 relating to the genus *Rhodococcus*.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

all the claims within the meaning of PCT Rule 13.2, and that the inventions of claims 1-15 consist of four invention groups consisting of the invention of claims 1-6 and 11-15, the invention of claim 7, the invention of claim 8 and invention of claims 9 and 10.

The matter common to claims 1-6 and 11-15 is "producing (S)-2-pentanol and (S)-2-hexanol with high optical purity by causing a product of crude purification or purification of a carbonyl reductase fraction obtained from a microbe or transformed cells to act on 2-pentanone and 2-hexanone, respectively". However, reference 1 (Biosci. Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729) describes a process for producing (S)-2-hexanol with high optical purity by reducing 2-hexanone with the use of (S)-specific secondary alcohol dehydrogenase obtained from *Nocardia fusca* by purification, and that 2-pentanone is also a substrate of reducing reaction by the (S)-specific secondary alcohol dehydrogenase. Reference 2 (H, GROGER, et. al., Tetrahedron (2004.01.12), Vol.60, No.3, p.633-640) describes a process for producing (S)-alcohol by reducing a ketone with the use of recombinant (S)-alcohol dehydrogenase obtained from *E. coli* transformed by (S)-alcohol dehydrogenase gene derived from *Rhodococcus erythropolis*, and that 2-hexanone is an especially suitable substrate in the reducing reaction, and that the optical purity of obtained (S)-alcohol is higher than 99% ee. Reference 3 (W, HUMMEL, et. al., Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.1+2, p.153-159; Erratum in Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.3, A35) describes a process for synthesizing an optically active (S)-2-hexanol of 99% ee. optical purity by performing a reducing reaction of ketone with the use of (S)-alcohol dehydrogenase derived from *R. erythropolis* through expression in *E. coli*. Thus, the above common matter falls within the category of prior art, and the "producing (S)-2-pentanol and (S)-2-hexanol with high optical purity by causing a product of crude purification or purification of a carbonyl reductase fraction obtained from the microbe or transformed cells to act on 2-pentanone and 2-hexanone, respectively" cannot be stated as being a "special technical feature" within the meaning of PCT Rule 13.2.

Therefore, it appears that the inventions of claims 1-6 and 11-15 consist of two invention groups consisting of the invention of claims 1-6 and the invention of claim 11-15.

Moreover, as described in the references 1 to 3, production of (S)-2-pentanol and (S)-2-hexanol by causing a reductase obtained from a microbe or a reductase obtained from transformant through expression of DNA coding for the reductase to act on 2-pentanone and 2-hexanone, respectively is publicly known. In particular, the references 2 and 3 describe a process for producing (S)-2-hexanol with the use of reductase obtained from a microbe belonging to the genus *Rhodococcus*. Therefore, the process for producing (S)-2-pentanol or (S)-2-hexanol with the use of a microbe belonging to the genus *Brettanomyces*, genus *Candida*, genus *Hortia*... (shortened)... genus *Rhodococcus*, claimed in claims 3-5 cannot be stated as being a group of inventions linked with each other so as to form a single general inventive concept, and it appears that the relevant invention group consists of 16 inventions relating to 16 different microbes, respectively.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C12N15/53, C07C55/08, C12P7/04, 7/40, 7/44

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C12N15/53, C07C55/08, C12P7/04, 7/40, 7/44

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
CAPLUS/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus (STN), PubMed

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>X</u> A	S. X. XIE, et. al., NAD ⁺ -dependent (S)-specific secondary alcohol dehydrogenase involved in stereoinversion of 3-pentyn-2-ol catalyzed by <i>Nocardia fusca</i> AKU 2123., Biosci. Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729	<u>2</u> 1、3-6
<u>X</u> A	H. GROGER, et. al., Preparative asymmetric reduction of ketones in a biphasic medium with an (S)-alcohol dehydrogenase under in situ-cofactor-recycling with a formate dehydrogenase., Tetrahedron (2004.01.12), Vol.60, No.3, p.633-640	<u>2-5</u> 1、6

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.05.2005

国際調査報告の発送日

24.5.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

4N

3335

田中 晴絵

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>X</u> A	W, HUMMEL, et. al., Towards a large-scale asymmetric reduction process with isolated enzymes: expression of an (S)-alcohol dehydrogenase in E. coli and studies on the synthetic potential of this biocatalyst., Adv. Synth. Catal. (2003), Vol. 345, No. 1+2, p. 153-159: (Erratum in Adv. Synth. Catal. (2003), Vol. 345, No. 3, A35)	<u>2 - 5</u> 1、6
P A	JP 2005-6552 A (三菱化学株式会社) 2005. 01. 13 (ファミリーなし)	1 - 6
P A	JP 2005-2 A (ダイセル化学工業株式会社) 2005. 01. 06 & EP 1469079 A1	1 - 6

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-6、11-15に係る発明は、微生物（又は形質転換体細胞）若しくは該微生物から得られるカルボニル還元酵素画分の精製物を用いて製造した(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールに関するものであり、請求の範囲7に係る発明は、(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸を脱炭酸して(R)又は(S)-3-メチルカルボン酸を製造する方法であり、請求の範囲8に係る発明は、光学活性アルコールから(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸を製造する方法であり、請求の範囲9、10に係る発明は、(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸である。

それ故に、請求の範囲の全てに共通のPCT規則13.2における特別な技術的事項はなく、請求の範囲1-15に係る発明は、請求の範囲1-6、11-15に記載された発明、請求の範囲7に記載された発明、請求の範囲8に記載された発明、及び、請求の範囲9、10に記載された発明からなる4個の発明群からなるものであると認める。

（特別ページに続き有り）

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲1、2、6、及び請求の範囲3-5のロドコッカス属に関する部分

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第Ⅲ欄の続き

請求の範囲1-6、11-15に共通の事項は、「微生物若しくは形質転換体細胞から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を、2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させ、高光学純度の(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを製造すること」である。しかしながら、文献1(Biosci. Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729)には、*Nocardia fusca* から精製した(S)-specific secondary alcohol dehydrogenase を用いて2-ヘキサノンを還元することにより高光学純度の(S)-2-ヘキサノールを製造する方法、及び該(S)-specific secondary alcohol dehydrogenase は2-ペンタノンも還元反応の基質とする旨が記載されており、文献2(H, GROGER, et. al., Tetrahedron (2004.01.12), Vol.60, No.3, p.633-640)には、*Rhodococcus erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase 遺伝子で形質転換した大腸菌から得られる組換え体(S)-alcohol dehydrogenase を用いてケトンを還元して(S)-alcohol を得る方法、及び還元反応において2-ヘキサノンは特に適した基質であり、得られる(S)-alcohol の光学純度は99% ee.より高い旨が記載されており、文献3(W, HUMMEL, et. al., Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.1+2, p.153-159; Erratum in Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.3, A35)には、大腸菌で発現させた *R. erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase を用いてケトンの還元反応を行うことにより、光学純度99% ee.の光学活性な(S)-2-hexanol を合成する方法が記載されていることから、上記共通事項は先行技術の域をでるものではなく、「微生物若しくは形質転換体細胞から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を、2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させ、高光学純度の(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを製造すること」はPCT規則13.2における特別な技術的特徴であるとは言えない。

したがって、請求の範囲1-6、11-15に係る発明は、請求の範囲1-6に記載された発明、請求の範囲11-15に記載された発明からなる2個の発明群からなるものであると認める。

さらに、文献1-3に記載されるように、微生物から得られる還元酵素若しくは還元酵素をコードするDNAを発現させた形質転換体から得られる還元酵素を2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させて(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを生成させることは公知であり、特に文献2、3にはロドコッカス属に属する微生物から得られる還元酵素を用いる(S)-2-ヘキサノールの製造方法が記載されていることから、請求の範囲3-5に記載のプレッタノマイセス属、キャンディダ属、ホルテア属、…(略)…ロドコッカス属に属する微生物を用いた(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールの製造方法は、単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明群であるとはいえず、異なった16属の微生物それぞれに関する16個の発明からなる発明群であると認める。